

# Desarrollo clínico y perspectivas de la vacuna CIMAvax EGF en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas

Dr Pedro C. Rodríguez, Gryssell Rodríguez MSc, Gisela González DraC, Dr Agustín Lage DrC

Traducción del artículo publicado en la revista *MEDICC Review* (Winter 2010, Vol 12, No 1). El original está disponible en inglés en <http://www.medicc.org/mediccreview/index.php?issue=11&id=128&a=vahtml>

## RESUMEN

**Introducción** CIMAvax EGF es una vacuna terapéutica contra el cáncer enteramente desarrollada en Cuba y licenciada en el país para su uso en pacientes adultos con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) en etapas IIIB/IV. La vacuna se basa en la inmunoterapia activa; o sea, manipula la respuesta inmune de un individuo para que genere sus propios anticuerpos efectores (Acs) contra el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

**Objetivo** Revisar los estudios clínicos y preclínicos realizados durante el desarrollo de CIMAvax EGF, principalmente los publicados por investigadores cubanos en revistas científicas internacionales arbitradas.

**Métodos** Se efectuó una búsqueda automatizada en PubMed con el uso de las palabras claves "vacuna" y "EGF", que dio como resultado 17 artículos publicados por autores cubanos entre el 1 de enero de 1994 y el 30 de septiembre del 2009. Se describieron y discutieron los principales resultados, junto con los hallazgos preliminares no publicados aún de un ensayo clínico inicial fase III en ejecución.

**Resultados** Los artículos revisados describen cinco ensayos clínicos fase I/II y uno fase II realizados en Cuba de 1995–2005. Un estudio no controlado de 1995–1996 fue la primera evidencia científica de la factibilidad de inducir una respuesta inmune contra el EGF autólogo en pacientes con diferentes tumores en etapas avanzadas. Ensayos posteriores controlados y aleatorizados incluyeron pacientes con CPCNP en etapas avanzadas (IIIB/IV). En los ensayos segundo y tercero de fase II

II, los pacientes inmunizados se diferenciaron en buenos respondedores (BR) y malos respondedores (MR) según las respuestas de anticuerpos contra el EGF y se confirmó mayor inmunogenicidad al utilizar el adyuvante Montanide ISA 51 en la formulación vacunal, así como los beneficios del tratamiento de ciclofosfamida a baja dosis 72 horas antes de la primera inmunización. En el cuarto ensayo fase I/II se encontró un aumento de la inmunogenicidad con el aumento de la dosis, dividida en dos sitios anatómicos, y además se estableció la correlación entre los títulos de Acs, la concentración de EGF sérico y la supervivencia. En los primeros cuatro ensayos fase I/II, la vacuna se administró después de la quimioterapia (esquema QVV). En el quinto ensayo fase I/II, se lograron mayor supervivencia e inmunogenicidad utilizando un esquema VQV y dividiendo la dosis vacunal en cuatro sitios anatómicos. El ensayo clínico de fase II confirmó los resultados de los estudios anteriores, así como un perfil de eventos adversos leves a moderados asociados a CIMAvax EGF. Se observó mayor supervivencia en todos los pacientes vacunados en comparación con los controles y la diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo de  $< 60$  años.

**Conclusiones** Es necesario evaluar los beneficios de CIMAvax EGF en etapas tempranas del CPCNP y en otras localizaciones tumorales, así como en los pacientes no aptos para recibir quimioterapia. La evidencia de que la vacuna es segura para uso mantenido también debe ser sistematizada.

**Palabras clave** Factor de crecimiento epidérmico, receptor del EGF, cáncer de pulmón de células no pequeñas, tratamiento vacunal, inmunoterapia, vacunas oncológicas

## INTRODUCCIÓN

En Cuba, el cáncer es la segunda causa principal de muerte y la primera causa de años de vida potencialmente perdidos, lo cual ocasiona un impacto significativo en la esperanza de vida al nacer. El cáncer de pulmón es la enfermedad maligna de mayor incidencia y además la causa principal de muerte por cáncer en el país. En los años 2005–2007, se reportó anualmente un promedio de 4234 nuevos casos de cáncer de pulmón y 4601 muertes por la enfermedad, para una tasa cruda de mortalidad de 54,3 en hombres y 27,3 en mujeres por 100 000 habitantes. Si persisten las tendencias demográficas actuales y los factores de riesgo, se puede esperar que la incidencia y la mortalidad por cáncer de pulmón aumenten significativamente en los próximos cinco años.[1]

Considerando que el aumento de la incidencia y la mortalidad por cáncer es un serio problema para la salud pública, el Ministerio de Salud Pública de Cuba ha implementado un Programa Integral de Control del Cáncer (PICC), que opera a todos los niveles del sistema nacional de salud. Este programa constituye un nuevo enfoque terapéutico para la enfermedad, donde la biotecnología sirve de puente entre la investigación en inmunología básica y la

salud pública. En Cuba la investigación y el desarrollo de la biotecnología se conciben como un ciclo científico completo (ciclo cerrado), desde el concepto hasta la aplicación clínica y comercialización de los productos. Los ingresos por las ventas del producto se invierten tanto en sostener el uso de las inmunoterapias en el sistema nacional de salud pública, como en la investigación y desarrollo de nuevas modalidades inmunoterapéuticas.[2,3]

Aunque las quimioterapias se han convertido en un arsenal indispensable para la reducción de la carga tumoral y el aumento de la supervivencia, su impacto en el cáncer de pulmón solo es medible en meses, con graves reacciones adversas como carga adicional. Por lo general, los pacientes con cáncer de pulmón enfrentan una etapa inicial de diagnóstico y tratamiento oncológico, durante la cual se obtiene la remisión parcial o completa, seguida de una segunda etapa, durante la cual la enfermedad progresa inexorablemente hacia la enfermedad terminal y la muerte. El mecanismo de acción de los productos inmunoterapéuticos, tales como los anticuerpos monoclonales (AcM) y las vacunas terapéuticas, es mucho más selectivo en la eliminación de las células tumorales y puede aumentar la supervivencia de los pacientes proporcionándoles una mejor calidad de vida.[3–5]

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (REGF) es un oncogén bien conocido. Su sobreactivación puede inducir la transformación de una célula normal en maligna, señalizando la inhibición de la apoptosis, proliferación celular, angiogénesis, metástasis y de procesos proinflamatorios o inmunosupresores. La vía de señalización y transducción del REGF puede ser interrumpida eficazmente por la privación de EGF, inhibición directa del receptor con AcM específicos, o moléculas de bajo peso molecular que compiten intracelularmente con el adenosín trifosfato (ATP) por el sitio de actividad tirosina quinasa del receptor, con repercusiones negativas sobre la proliferación celular y, por consiguiente, sobre el desarrollo del tumor.[6,7]

La inducción de la privación de EGF por la inmunoterapia activa es un concepto emergente desarrollado por investigadores cubanos, que incluye la manipulación de la respuesta inmune del individuo para que genere sus propios anticuerpos efectores (Acs) contra el EGF, reduciendo de esta forma el tamaño del tumor o impidiendo su progresión.[8–13]

CIMAvax EGF es una vacuna terapéutica contra el cáncer desarrollada totalmente en Cuba. Sus ingredientes farmacéuticos activos (IFA) se producen en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). La vacuna se formula en el Centro de Inmunología Molecular (CIM) y los ensayos clínicos se realizan en hospitales que reúnen las condiciones profesionales y tecnológicas para cumplir las normas de Buenas Prácticas Clínicas. [14,15] La prueba de principio (POP, sigla en inglés) del impacto clínico de esta novedosa terapia fue posible por la integración del desarrollo biotecnológico cubano con el sistema de salud pública y la colaboración entre los institutos de investigaciones y los hospitales.

Desde 1995 CIMAvax se ha sometido a cinco ensayos clínicos fase I/II y uno fase II. Los resultados de estas investigaciones condujeron a que el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) (CECMED), autoridad reguladora cubana, concediera la licencia a esta vacuna terapéutica para su uso en pacientes adultos con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) en estadios IIIB/IV. Los resultados de las investigaciones también se han publicado en varias revistas científicas nacionales e internacionales.

El objetivo de este artículo es revisar las investigaciones preclínicas y clínicas realizadas durante el desarrollo de esta novedosa vacuna terapéutica cubana contra el cáncer, principalmente sobre la base de estudios publicados por investigadores cubanos en revistas científicas internacionales arbitradas.

### MÉTODOS

Se realizó una búsqueda automatizada utilizando las palabras clave "vacuna" y "EGF" en la base de datos PubMed (Medline) a través del servicio HINARI de la OMS. Como criterios generales para la selección de los artículos se asumió que fueran publicados por autores cubanos en revistas internacionales arbitradas. Se encontraron 17 artículos publicados entre el 1 de enero de 1994 y el 30 de septiembre del 2009 y se revisó su cobertura de conceptos, datos clínicos y aspectos tecnológicos esenciales del desarrollo del CIMAvax EGF y su impacto potencial sobre el CPCNP. Los principales hallazgos de cada artículo se describieron y discutieron; se incluyeron los resultados preliminares inéditos de un ensayo clínico fase III en ejecución.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Formulación de la vacuna e inducción clínica de la respuesta inmune contra el EGF autólogo

Cuando un individuo es inmunizado con EGF autólogo (de su propia especie), no se produce respuesta de anticuerpos anti-EGF. Para probar la factibilidad de manipular la respuesta inmune de un individuo induciendo una respuesta de Acs anti-EGF, que redujera la concentración de EGF en sangre y privara al tumor de su factor de crecimiento,[8] se requería una formulación vacunal que hiciera al EGF reconocible para el sistema inmune, o sea que lo hiciera inmunogénico. Por lo tanto, se necesitaba la selección de un inmunopotenciador y un adyuvante adecuados.

En 1992 se comenzaron los estudios preclínicos para seleccionar la formulación vacunal más efectiva para inducir inmunogenicidad contra el EGF autólogo. En esa etapa, se diseñaron los componentes de la formulación vacunal y se demostró la posibilidad de inducir inmunogenicidad efectiva con el EGF autólogo. Se ensayaron diferentes formulaciones vacunales y se seleccionaron dos proteínas inmunopotenciadoras: el toxoide tetánico (TT) y la P64k de *Neisseria meningitidis*, ambas producidas en Cuba (por el Instituto Finlay y el CIGB, respectivamente). También se propusieron dos adyuvantes posibles para la evaluación clínica: el hidróxido de aluminio (Superfos, Denmark) y Montanide ISA 51 (Seppic, France).[13,14]

El desarrollo clínico de CIMAvax EGF comenzó en 1995 con un ensayo clínico abierto, fase I/II (Piloto 1) en el Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ) en la Habana. Se utilizó un diseño no aleatorizado en 10 pacientes con tumores malignos primarios de diferentes localizaciones, confirmados histológicamente y previamente tratados con quimioterapia de primera línea (esquema terapéutico QVV) (Tabla 1). El objetivo principal fue evaluar la inmunogenicidad de la incipiente formulación vacunal.[15]

Los resultados de este primer ensayo clínico constituyeron la primera evidencia de la factibilidad de inducir una respuesta inmune contra el EGF autólogo en pacientes con diferentes tumores en etapas avanzadas. Adicionalmente, se confirmó que la proteína P64k era el inmunopotenciador óptimo para la conjugación del EGF y la formulación de CIMAvax EGF.

#### Selección del CPCNP como localización diana y desarrollo avanzado de la formulación vacunal

Un factor clave en el desarrollo de la formulación final de la vacuna fue la selección de la localización tumoral la introducción de esta novedosa estrategia terapéutica. Se seleccionó el CPCNP debido a su frecuencia y porque el REGF está sobre-expresado en los tejidos durante el desarrollo y progresión de las neoplasias pulmonares en las siguientes proporciones: 62% en todos los tumores de CPCNP, 89% en los tumores de células escamosas, 41% en los adenocarcinomas y 80% en los tumores broncoalveolares. La magnitud de la expresión del EGF se ha reportado en la literatura como un factor de predicción de respuesta a la terapia biológica en pacientes con CPCNP.[6,8,11,16]

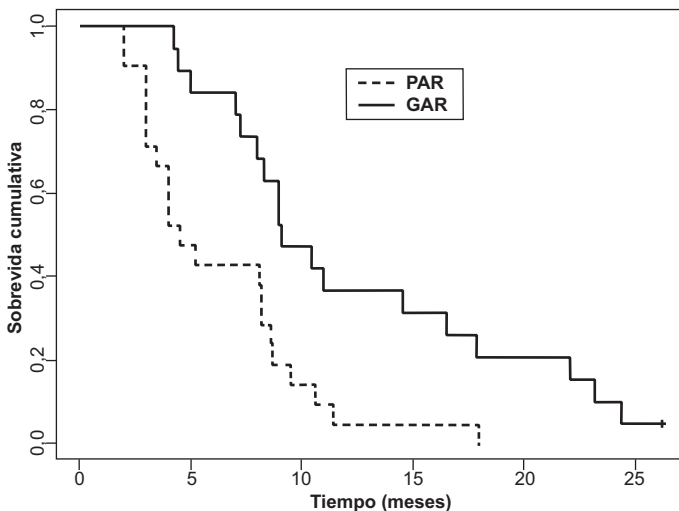
Los dos siguientes ensayos clínicos fase I/II (Piloto 2 y Piloto 3) fueron conducidos conjuntamente en periodos superpuestos (1997–1999 y 1998–2001, respectivamente) en el CIMEQ y el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología (INOR), también en la Habana (Tabla 1). El ensayo Piloto 2 incluyó 20 pacien-

Tabla 1. Ensayos clínicos fase I/II realizados en Cuba con la vacuna terapéutica anticancerosa de EGF, 1995–2005

Ensayo clínico (fecha)	Localización del tumor	Diseño	Formulación de la vacuna/Esquema	Resultados	Referencias
Piloto 1 (1995–1996)	Pulmón Colon Estómago Próstata	Fase I/II no controlado 10 pacientes (5 por grupo)	EGF /TT/AL vs EGF/P64k/AL  Esquema QVV	Se escoge a la P64k como inmunomodulador Primer reporte clínico de inmunogenicidad del EGF autólogo.	Ann Oncol. 1998 Apr; 9(4):431-5
Piloto 2 (1997–1999)	CPCNP Estadio IIIB/IV	Fase I/II controlado, aleatorizado 20 pacientes (10 por grupo)	EGF/P64k/AL vs EGF/P64k/Montanide ISA 51  Esquema QVV	Se confirma al Montanide ISA 51 como adyuvante. Clasificación de los pacientes inmunizados en MR y BR	Ann Oncol. 2003 Mar; 14(3):461–6
Piloto 3 (1998–2001)	CPCNP Estadio IIIB/IV	Fase I/II controlado, aleatorizado 20 pacientes (10 por grupo)	Inmunomodulación con ciclofosfamida (200 mg/m <sup>2</sup> SC) 72 horas antes de la vacunación EGF/P64k/AL vs EGF/P64k/Montanide ISA 51 Esquema QVV	Se introduce pretratamiento de inmunomodulación con ciclofosfamida. Clasificación MR y BR	
Piloto 4 (2000–2003)	CPCNP Estadio IIIB/IV	Fase I/II controlado, aleatorizado 43 pacientes (21 y 22 por grupo)	EGF/P64k/AL (1 deltoide) vs EGF/P64k/AL (2 deltoides)  Esquema QVV	Se aumenta la inmunogenicidad con una dosis doble dividida entre los 2 deltoides. Correlación entre los títulos de Ac, concentración de EGF sérico y supervivencia	Cancer Biol Ther. 2006 Feb;5(2):130–40
Piloto 5 (2001–2005)	CPCNP Estadio IIIB/IV	Fase I/II controlado, aleatorizado 20 pacientes (10 por grupo)	EGF/P64k/Montanide ISA 51 Aplicado en 4 sitios (2 deltoides, 2 glúteos)  Esquema VQV	Mayor supervivencia que en el control histórico. Inmunogenicidad aumentada (sBR)	J Immunother. 2009;32(1):92–9.

CPCNP: Cáncer de pulmón de células no pequeñas

**Figura 1: Funciones de supervivencia para los buenos respondedores (BR) y los malos respondedores (MR) a la vacunación con EGF en dos ensayos clínicos pilotos fase I/II (datos reunidos)[17]**



tes en etapas avanzadas de CPCNP (IIIB/IV); aleatoriamente 10 fueron inmunizados con la vacuna de EGF/P64k usando hidróxido de aluminio como adyuvante (EGF/P64k/AL) y 10 recibieron EGF/P64k usando Montanide ISA 51 como adyuvante (EGF/P64k/ Montanide ISA 51).[17]

El estudio Piloto 3 también incluyó 20 pacientes con CPCNP en etapas avanzadas (IIIB/IV), que recibieron los mismos tratamien-

tos usados en el ensayo Piloto 2 (EGF/P64k/AL y EGF/P64k/ Montanide ISA 51) con una aleatorización similar en dos grupos, excepto que todos los pacientes recibieron una dosis de ciclofosfamida (200 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal) 72 horas antes del inicio del tratamiento con la vacuna.[17] La ciclofosfamida es un medicamento anticanceroso ampliamente estudiado. Sus efectos inmunomoduladores tienen significativas repercusiones asociadas a la dosis y al esquema terapéutico.[18,19] Este pretratamiento se introdujo para romper la tolerancia inmunológica al EGF e inducir inmunogenicidad hacia esta molécula humana desde la primera dosis.[17]

Los ensayos clínicos Piloto 2 y Piloto 3 confirmaron que la vacunación induce una respuesta específica de Acs anti-EGF y permitió la clasificación de los pacientes inmunizados en dos subpoblaciones: los malos respondedores (MR) —con mala respuesta de Acs anti-EGF— y los buenos respondedores (BR) —con respuesta de anticuerpos anti-EGF  $\geq 1:4000$ , al menos 4 veces (4x) mayores que sus niveles anteriores a la inmunización. En ambos estudios, la supervivencia fue mayor en el grupo BR (media de 12,41 meses, mediana de 9,1 meses), comparada con la media de 5,47 meses (mediana de 4,5 meses) en los pacientes MR (Figura 1). La diferencia de supervivencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Se logró una supervivencia de seis meses en 84% de los BR y 38% en los MR. A los veinte meses la supervivencia alcanzada por los BR fue del 37%, y del 4% para los MR. Estos estudios mostraron además que los pacientes con una respuesta de Acs anti-EGF durante  $\geq 60$  días sobrevivían más tiempo que aquellos, cuya respuesta duraba  $< 60$  días. [17]

Los resultados de los ensayos clínicos fase I/II Piloto 2 y Piloto 3 confirmaron la mayor inmunogenicidad con el adyuvante Montanide ISA 51 (EGF/ P64k/Montanide ISA 51) en la formulación de la vacuna, así como los beneficios del tratamiento con ciclofosfamida a baja dosis 72 horas antes de la primera inmunización.[17,20]

Un cuarto ensayo clínico fase I/II, realizado en el Hospital Hermanos Ameijeiras (HHA) en la Habana durante el periodo 2002–2003, evaluó dos niveles de dosis de la vacuna terapéutica. Se aleatorizaron 43 pacientes con CPCNP en etapas avanzadas (IIIB/IV) en 2 grupos que recibieron 71 µg ó 142 µg de EGF (Tabla 1). La dosis más baja se aplicó en una de las regiones deltoideas y la mayor se distribuyó entre las dos regiones deltoideas.[21]

El estudio Piloto 4 estableció una correlación entre la dosis de vacuna y los títulos de Acs anti-EGF, las concentraciones de EGF sérico y la supervivencia de los pacientes. La supervivencia en los pacientes tratados (media de 9.83 meses, mediana de 8 meses) superó significativamente ( $p < 0.05$ ) el control histórico (media de 6.2 meses, mediana de 4.1 meses), mientras que se correlacionó positivamente con los títulos de los BR ( $\geq 1/4000$ ) y menores concentraciones de EGF en suero ( $< 168$  pg/mL). Este ensayo clínico demostró por primera vez que los niveles de concentración de EGF en el suero disminuyen cuando los títulos de Acs aumentan.[21]

### Retorno a la investigación preclínica: manipulación de las variables inmunofarmacológicas y optimización del esquema terapéutico

La inmunofarmacología de las vacunas terapéuticas contra el cáncer aún no se comprende totalmente y existen pocos datos sobre los determinantes inmunofarmacológicos que las afectan. [22–28] Muchas variables tienen que ser evaluadas, tales como los esquemas terapéuticos, la vía de administración, la dosis, el intervalo entre dosis y la combinación óptima a partir de los tratamientos ya establecidos, entre otras. Este proceso es mucho más complejo cuando se trata de refinar el esquema de tratamiento para una vacuna basada en una molécula “propia” circulante, tal como es el EGF autólogo y de la inducción de una respuesta de Acs que la elimine de la circulación, de este modo privando de la misma a su receptor.

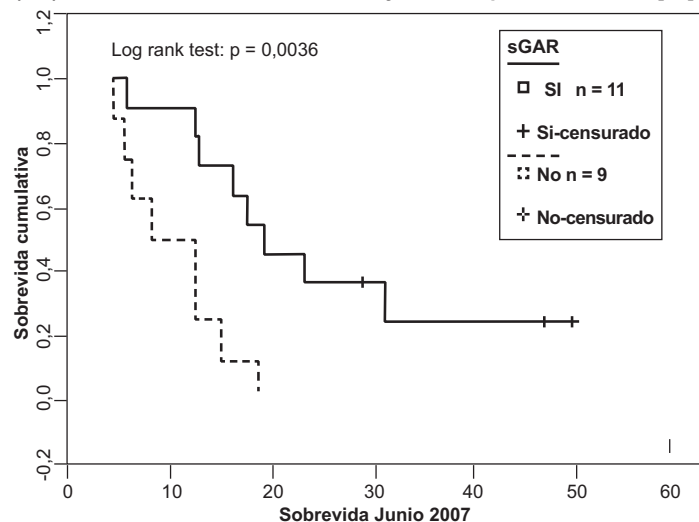
Se requerían estrategias más eficientes para la inducción de respuesta de Acs con la vacuna CIMAvax EGF, así como para el mantenimiento de la respuesta a largo plazo a través de la reinmunización (refuerzo).[25–27] Por ello, los investigadores volvieron a la investigación preclínica utilizando biomodelos murinos, definidos como BR (ratones BALB/c) o MR (ratones C57BL6), en dependencia de su sus características genéticas y la respuesta de Acs cuando eran retados con la vacuna. Los animales se inmunizaron con la vacuna CIMAvax EGF (EGF/P64k/Montanide ISA 51), y se manipularon algunas variables inmunofarmacológicas (dosis, número de inmunizaciones, intervalo entre dosis), tanto durante la fase de inducción, como durante la fase de refuerzo o reinmunización, con la intención de inducir una respuesta de Acs anti-EGF temprana, robusta y prolongada, que potenciara la privación inmunológica activa.[29]

Para la inducción, el fraccionamiento de una dosis aparentemente pequeña (4 µg) en 4 partes aplicada como inyección intramuscular en diferentes sitios anatómicos aumentaba los

niveles máximos de títulos de Acs y prolongaba la duración de la respuesta vacunal. Acortando el intervalo entre las dosis de reforzamiento se reducía la persistencia de títulos de Acs anti-EGF, mientras que el reforzamiento repetido cambiaba el estado de MR al de BR.

Los resultados de este estudio condujeron a la conclusión de que la vacuna se debía aplicar en una dosis alta, aunque fraccionada en múltiples sitios anatómicos (tales como las dos regiones deltoideas o glúteas), para acercar el EGF de la vacuna a los nodulos linfáticos regionales y lograr sinergia en la respuesta inmune.[29]

**Figura 2: Funciones de la supervivencia en los super buenos respondedores (SBR) comparados con los buenos respondedores (BR) a la vacuna CIMAvax EGF, Ensayo clínico piloto de fase I/II[42]**



### Retorno a los ensayos clínicos: combinando la vacunación terapéutica (V) con la quimioterapia (Q)

La biología tumoral es el resultado de la interacción del genoma con el ambiente, además de la influencia mutua. Esta interacción tiene repercusiones tanto en la reconfiguración del metabolismo celular, como en la selección evolutiva de mecanismos tumorales más eficientes. El sistema inmune es uno de los elementos críticos involucrados en la conformación del fenotipo celular.[30–34]

La complejidad de los mecanismos involucrados en la transformación maligna de las células se presta a un enfoque terapéutico combinado, dirigido entre otras cosas, a controlar simultáneamente la inmunoevasión del tumor y la diseminación. En este contexto, las inmunoterapias emergen como un enfoque que garantiza mayor especificidad y limitada toxicidad asociada. Las inmunoterapias se han incluido entre los regímenes terapéuticos citotóxicos habituales desde que fueron desarrolladas por primera vez. La inmunoterapia pasiva con Acs, en particular, ha confirmado el potencial de estas combinaciones.[35–39] En este contexto, se consideró hipotéticamente que los clones linfocitarios potencialmente autoreactivos, capaces de generar una respuesta de Acs contra EGF autólogo, reemergen de la depleción máxima de linfocitos inducida por la quimioterapia (nadir de linfopenia), amplificados con ventaja homeostática.[40,41]

Sobre la base de estos conceptos y los resultados de las investigaciones preclínicas, se propuso un esquema terapéutico combinando vacuna, quimioterapia y más vacuna (VQV). Este

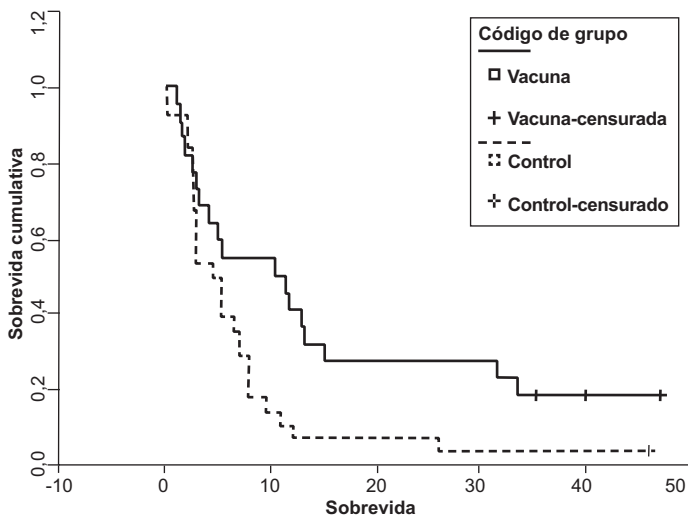
esquema se evaluó en el quinto ensayo clínico fase I/II (Piloto 5), comenzado en 2001 en el Hospital Hermanos Ameijeiras (HHA) de la Habana, utilizándose la formulación CIMAvax EGF (EGF/P64k/Montanide ISA 51) en 20 pacientes con CPCNP estadios IIIB/IV. Este estudio corroboró la correlación entre el aumento de los títulos de Acs anti-EGF y la disminución de la concentración de EGF en el suero. También se demostró la correlación entre los títulos de Acs y la capacidad para inhibir la unión EGF/REGF y se estableció la inmunodominancia en el suero de pacientes BR contra el lazo B de la molécula de EGF.[42]

**Tabla 2. Eventos adversos relacionados con la vacuna de EGF por grupo, ensayo clínico fase II**

Evento	Vacuna (n=40)		Control (n=40)	
	No.	%	No.	%
Fiebre	10	25	3	7,5
Escalofríos	7	18	0	0
Náuseas	4	10	3	7,5
Vómitos	4	10	1	2,5
Temblor	7	18	0	0
Dolor de cabeza	10	25	4	10
Artralgia	5	13	0	0
Astenia	8	20	7	18
Dolor en el sitio de la inyección	5	13	0	0
Erupción acneiforme	1	2,5	0	0

Otro resultado importante en el ensayo clínico Piloto 5 fue la diferenciación de una nueva subpoblación de pacientes con títulos de anticuerpos  $\geq 1:64\ 000$ , designada como súper buenos respondedores (sBR). También se observó una correlación entre respuesta de Acs y supervivencia; los pacientes sBR sobrevivían significativamente más tiempo que los clasificados solamente como BR (Figura 2). Este hallazgo clínico tiende a confirmar la

**Figura 3: Funciones de supervivencia para los pacientes <60 años de edad, ensayo clínico fase II[44]**



Vacunados: n=22  
 Control: n=28  
 Prueba de Log Rank: p = 0,0124

hipótesis de que los clones potencialmente autoreactivos re-emergan y se amplifican, posiblemente favoreciendo la inmunización activa con el esquema terapéutico VQV.[42]

Estos hallazgos han conducido a una nueva línea de investigación preclínica para evaluar la influencia específica de cada combinación de inmunoterapia activa con los regímenes habituales de quimioterapia, definiendo las variables inmunofarmacológicas que se toman en cuenta para el diseño racional de esquemas terapéuticos combinados y el establecimiento del impacto específico de estas combinaciones sobre las poblaciones de linfocitos T y B.[43]

**Ensayo clínico fase II: Prueba de principio y licencia para el tratamiento del CPCNP**

Paralelamente con la evaluación de esquema VQV, se inició un primer ensayo clínico controlado fase II en diciembre del 2001 para evaluar el efecto de supervivencia con la inmunización por CIMAvax EGF (EGF/P64k/Montanide ISA 51) en pacientes con CPCNP avanzado (IIIB/IV) previamente tratados con quimioterapia de primera línea.[44] Este ensayo incluyó 80 pacientes aleatorizados 1:1 y se realizó en 4 hospitales de la Habana (HHA, CIMEQ, INOR y el Hospital Benéfico Jurídico) y 5 hospitales provinciales (Hospital III Congreso en Pinar del Río, Hospital Celestino Hernández en Villa Clara, Hospital Marie Curie en Camagüey, Hospital Vladimir Ilich Lenin en Holguín y el Hospital Saturnino Lora en Santiago de Cuba).

En este ensayo clínico fase II, se confirmó el perfil de seguridad observado en los anteriores estudios fase I/II de la vacuna. No se detectaron eventos adversos (EA) de grados 3 o 4 relacionados con el tratamiento, según los Criterios Comunes de Toxicidad del Instituto Nacional del Cáncer versión 3.0 (EUA). Los EA más frecuentes fueron fiebre, dolor de cabeza, escalofríos y dolor en el sitio de inyección (Tabla 2). Las correlaciones entre los títulos más altos de Acs anti-EGF y las concentraciones más bajas de EGF sérico y entre los títulos más altos de Acs anti-EGF y una mayor supervivencia del paciente también fueron confirmados.

La media de la supervivencia fue de 19,47 meses (mediana de 11,7 meses) en los pacientes BR (n=20); media de 4,97 meses (mediana de 3,6 meses) en los MR (n=18) y de 8,52 meses (mediana de 5,33 meses) en el grupo control (n=37). Se observó una supervivencia más larga en todos los pacientes vacunados en comparación con los controles no vacunados y aleatorizados y la diferencia fue significativa (p <0,05) en el grupo de <60 años (media de 18,53 meses; mediana de 11,47 meses en los vacunados en comparación con una media de 7,55 meses; mediana de 5,33 meses en los controles) (Figura 3).[44]

Los resultados de laboratorio asociados con el mecanismo de acción de CIMAvax EGF confirmaron la capacidad del suero de los pacientes vacunados para inhibir la unión EGF/REGF y se estableció por primera vez la capacidad del mismo para inhibir la fosforilación del REGF. Además, la supervivencia fue mejor entre los pacientes vacunados, cuyos sueros inhibían la fosforilación del REGF y fue significativamente mejor entre los pacientes cuyos sueros reconocían preferentemente el lazo B de la molécula del EGF.[45]

Este ensayo clínico fase II contribuyó a la prueba de principio del efecto clínico de la vacunación terapéutica al demostrar el aumen-

to de sobrevida en los pacientes vacunados con EGF comparados con el grupo control y la factibilidad de manipular la respuesta inmune de un individuo para liberar sus propios Acs efectores contra el EGF como factor de crecimiento tumoral, reduciendo de ese modo el tamaño del tumor o evitando su progresión.

La evidencia obtenida del quinto ensayo clínico fase I/II (Tabla 1) y los resultados de este estudio de fase II condujeron a que el CECMED, la autoridad reguladora cubana otorgara la licencia al CIMAvax EGF como una vacuna terapéutica indicada en pacientes adultos con CPCNP avanzado (etapas IIIB/IV).[46]

### **Desarrollo tecnológico: sistemas de producción y control de la calidad**

El desarrollo tecnológico de la vacuna terapéutica contra el cáncer CIMAvax EGF incluye la inducción de inmunogenicidad contra el EGF autólogo al conjugarlo con otras moléculas que actúan como inmunopotenciadores (P64k), la selección del adyuvante más apropiado (Montanide ISA 51) y el aumento de la cantidad en cada formulación, comenzando con las cantidades de laboratorio utilizadas en los estudios preclínicos y la vacunación de los primeros pacientes, hasta su escalado para abastecer los ensayos clínicos fase II en curso en Cuba y otros ensayos clínicos en el extranjero, así como la demanda del sistema de salud para el tratamiento de pacientes.

El EGF utilizado en la vacuna es un factor de crecimiento recombinante (hu-rEGF). La proteína P64k, también es recombinante. Ambos son producidos en el CIGB como ingredientes farmacéuticos activos y suministrados al CIM, donde se conjugan químicamente y se prepara la formulación final de la vacuna.

Paralelamente al proceso de producción, se han realizado ensayos fisicoquímicos para caracterizar el producto en las diferentes etapas del proceso de desarrollo, desde la PoC hasta la formulación actual de la vacuna.[47] Se han dado pasos en cada etapa para garantizar que los diferentes lotes de las diferentes etapas de desarrollo sean comparables. Se han observado Buenas Prácticas de Producción (BPP) durante todo el proceso de producción y control de la calidad, que se ha sometido a auditorías e inspecciones por las agencias reguladoras de Cuba y otros países.

Realizar los ensayos para evaluar la inmunogenicidad de la vacuna ha sido particularmente difícil. Este tipo de ensayos se realizan *in vivo*. El EGF humano es ajeno a otras especies. Para vencer este desafío, se utilizaron ratones NMRI. El fondo genético de esta línea no consanguínea de ratones (no se aparean con los padres) los convierte en un biomodelo adecuado para representar la variabilidad genética de las poblaciones humanas abiertas. Por esta particularidad, los ratones NMRI solamente producen respuestas de Acs anti-EGF, cuando se inmunizan con la formulación vacunal completa (EGF/P64k/Montanide ISA 51) y no responden cuando se inmunizan con la molécula de EGF solamente, o sea, fuera de la formulación vacunal que la hace inmunogénica.[47]

### **Ensayo clínico fase III en curso**

Está en ejecución un ensayo clínico fase III desde junio del 2006 en 18 centros de investigación clínica en todo el país. Se está utilizando el mismo esquema terapéutico QVV del ensayo clínico fase II, pero la vacuna se aplica en 4 sitios de inyección. Este estudio

se programó para reclutar a 579 pacientes de CPCNP avanzado (etapas IIIB/IV) con una aleatorización de 1:2 (1 control por cada 2 pacientes tratados). Los resultados se evaluarán en 2 estratos de pacientes: los >60 años (n=381) y los ≤60 años (n=198).


Los resultados preliminares en 160 pacientes muestran diferencias numéricas en las tasas de supervivencia a los 24 meses. El análisis de supervivencia gráfico de ambos estratos y según el protocolo muestra tendencia a una separación retardada de las curvas en el tiempo en favor de los pacientes vacunados comparados con los no vacunados, como se esperaría en la evaluación de la supervivencia de pacientes tratados con vacunas terapéuticas.[48–50] Aunque la significación estadística de estas diferencias aun no ha sido confirmada, ellas sugieren un posible beneficio para los pacientes tratados con la vacuna CIMAvax EGF.

### **Retos futuros**

Aunque el beneficio de sobrevida por inmunización terapéutica con CIMAvax EGF en pacientes con CPCNP avanzado ha quedado demostrado; la evidencia se obtuvo en el contexto de ensayos clínicos con criterios predefinidos de inclusión y exclusión y normas de atención oncológica de servicios especializados. La siguiente etapa en el desarrollo de la vacuna CIMAvax EGF es la transición de los servicios especializados a la atención primaria. Para lograr este objetivo, es necesario comenzar desde ahora a sistematizar la evidencia de seguridad de la vacuna para uso mantenido.

En la actualidad, los pacientes oncológicos son objeto de un cambio de paradigma por medio del cual el impacto secuencial de la inmunoterapia combinada con cirugía, quimioterapia y radioterapia tiende a prolongar la supervivencia con una calidad de vida éticamente aceptable.[3,4,48–50] Se comienza a enfocar el cáncer como una enfermedad de dos etapas: la primera empieza con el diagnóstico, seguido de un tratamiento tóxico muy agresivo en el marco de un hospital, dirigido a la máxima reducción de la carga tumoral; la segunda comienza cuando el potencial de la quimioterapia ha sido agotado, la progresión es lenta y continua, el pronóstico depende de la velocidad de progresión tumoral y la enfermedad se comporta como un padecimiento crónico no transmisible que requiere atención permanente. Por su baja toxicidad, es en esta segunda etapa que las inmunoterapias deben administrarse de forma crónica, en el marco de la atención primaria.

Enfrentar este desafío implica para CIMAvax EGF una transición desde el establecimiento de la prueba de principio en los ensayos clínicos hasta causar un impacto en la salud de la población, prolongando la sobrevida de aproximadamente 4234 nuevos casos de CPCNP que se reportan anualmente en Cuba con la consiguiente reducción del número de muertes durante el mismo período.

Al mismo tiempo, es necesario evaluar los efectos de la vacuna en etapas anteriores del CPCNP y en pacientes no aptos para quimioterapia. Se necesitan factores de predicción, que indiquen cuál subpoblación de pacientes con CPCNP puede o no responder a esta inmunoterapia. Además, es necesario evaluar los beneficios de aplicar el CIMAvax EGF en otras localizaciones, tales como el carcinoma de próstata, en el cual el REGF juega un papel crucial en los mecanismos de resistencia al bloqueo androgénico.[51] 

## REFERENCIAS

- Galán Y, Fernández L, Torres P, García M. Trends in Cuba's Cancer Incidence (1990 to 2003) and Mortality (1990 to 2007). *MEDICC Review*. 2009;11(3):19–26.
- Romero T. Changing the Paradigm of Cancer Control in Cuba. *MEDICC Review*. 2009;11(3):5–7.
- Lage A. Connecting immunology research to public health: Cuban biotechnology. *Nature Immunology*. 2008;9(2):109–12.
- Lage A. Transforming Cancer Indicators Begs Bold New Strategies from Biotechnology. *MEDICC Review*. 2009;11(3):8–12.
- Gerard C, Debruyne C. Immunotherapy in the landscape of new targeted treatments for non-small cell lung cancer. *Mol Oncol*. 2009 Dec;3(5–6):409–24.
- Toffoli G, De Mattia E, Cecchin E, Biason P, Masier S, Corona G. Pharmacology of epidermal growth factor inhibitors. *Int J Biol Markers*. 2007 Jan–Mar;22(1 Suppl 4):S24–39.
- Hirsch FR, Varella-García M, Cappuzzo F. Predictive value of EGFR and HER2 overexpression in advanced non-small-cell lung cancer. *Oncogene*. 2009 Aug;28 Suppl 1:S32–7.
- González G, Lage A. Cancer Vaccines for Hormone/Growth Factor Immune Deprivation: A Feasible Approach for Cancer Treatment. *Curr Cancer Drug Targets*. 2007 May;7(3):229–41.
- Macias A, Azavedo E, Hägerström T, Klintonberg C, Pérez R, Skoog L. Prognostic significance of the receptor for epidermal growth factor in human mammary carcinoma. *Anticancer Res*. 1987 May–Jun;7(3 Pt B):459–64.
- Arteaga CL. ErbB-targeted therapeutic approaches in human cancer. *Exp Cell Res*. 2003 Mar 10;284(1):122–30.
- Lage A, Crombet T, González G. Targeting epidermal growth factor receptor signaling: early results and future trends in oncology. *Ann Med*. 2003;35(5):327–36.
- Pérez R, Pascual M, Macias A, Lage A. Epidermal growth factor receptors in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1984 Sep;4(3):189–93.
- González G, Sánchez B, Suárez E, Beausoleil I, Perez O, Lastre M, et al. Induction of immune recognition of self-epidermal growth factor (EGF): effect on EGF biodistribution and tumor growth. *Vac Res*. 1996;5(4):233–44.
- González G, Pardo OL, Sánchez B, García JL, Beausoleil I, Marinello P, et al. Induction of immune recognition of self-epidermal growth factor II: characterization of the antibody immune response and the use of a fusion protein. *Vac Res*. 1997;6(2):91–100.
- González G, Crombet T, Catalá M, Mirabal V, Hernández JC, González Y, et al. A novel cancer vaccine composed of human-recombinant epidermal growth factor linked to a carrier protein: report of a pilot clinical trial. *Ann Oncol*. 1998 Apr;9(4):431–5.
- Hirsch FR, Herbst RS, Olsen C, Chansky K, Crowley J, Kelly K, et al. Increased EGFR Gene Copy Number Detected by Fluorescent In Situ Hybridization Predicts Outcome in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated With Cetuximab and Chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 10;26(20):3351–7.
- González G, Crombet T, Torres F, Catalá M, Alfonso L, Osorio M, et al. Epidermal growth factor-based cancer vaccine for non-small-cell lung cancer therapy. *Ann Oncol*. 2003 Mar;14(3):461–6.
- Ghiringhelli F, Larmonier N, Schmitt E, Parcelier A, Cathelin D, Garrido C, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *Eur J Immunol*. 2004 Feb;34(2):336–44.
- Man S, Bocci G, Francia G, Green SK, Jothy S, Hanahan D, et al. Antitumor effects in mice of low-dose (metronomic) cyclophosphamide administered continuously through the drinking water. *Cancer Res*. 2002 May 15;62(10):2731–5.
- González G, Crombet T, Neninger E, Viada C, Lage A. Therapeutic vaccination with epidermal growth factor (EGF) in advanced lung cancer: analysis of pooled data from three clinical trials. *Hum Vaccin*. 2007 Jan–Feb;3(1):8–13.
- Crombet T, Neninger E, Catalá M, García B, Leonard I, Martínez L, et al. Treatment of NSCLC Patients with an EGF-Based Cancer Vaccine: report of a Phase I trial. *Cancer Biol Ther*. 2006 Feb;5(2):130–40.
- Berd D, Sato T, Maguire HC Jr, Kairys J, Mas-trangelo MJ. Immunopharmacologic analysis of an autologous, hapten-modified human melanoma vaccine. *J Clin Oncol*. 2004 Feb 1;22(3):403–15.
- Gardiner DF, Huang Y, Basu S, Leung L, Song Y, Chen Z, et al. Multiple-site DNA vaccination enhances immune responses in mice. *Vaccine*. 2006 Jan 16;24(3):287–92.
- Aucouturier J, Ascarateil S, Dupuis L. The use of oil adjuvants in therapeutic vaccines. *Vaccine*. 2006 Apr 12;24 Suppl 2:S2–44–5.
- Lage A, Pérez R, Fernández LE. Therapeutic cancer vaccines: at midway between immunology and pharmacology. *Curr Cancer Drug Targets*. 2005 Dec;5(8):611–27.
- Zinkernagel RM, Hengartner H. Regulation of the immune response by antigen. *Science*. 2001 Jul 13;293(5528):251–3.
- Starzl TE, Zinkernagel RM. Antigen localization and migration in immunity and tolerance. *N Engl J Med*. 1998 Dec 24;339(26):1905–13.
- Couch M, Saunders JK, O'Malley BW Jr, Pardoll D, Jaffee E. Spatial distribution of tumor vaccine improves efficacy. *Laryngoscope*. 2003 Aug;113(8):1401–5.
- Rodríguez PC, González I, González A, Avellanet J, López A, Pérez R, et al. Priming and boosting determinants on the antibody response to an Epidermal Growth Factor-based cancer vaccine. *Vaccine*. 2008 Aug 26;26(36):4647–54.
- Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57–70. Review.
- Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Three Es of Cancer Immunoeediting. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:329–60.
- Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. *Cancer Cell*. 2008 Jun;13(6):472–82. Review.
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):436–44. Review.
- Mantovani A. Inflammation Metastasis. *Nature*. 2009 Jan 1;457(7225):36–7.
- Emens LA, Jaffee EM. Leveraging the activity of tumor vaccines with cytotoxic chemotherapy. *Cancer Res*. 2005 Sep 15;65(18):8059–64.
- Dass S, Vital EM, Emery P. Development of psoriasis after B cell depletion with rituximab. *Arthritis Rheum*. 2007 Aug;56(8):2715–8.
- Goetz M, Atreya R, Ghalibafian M, Galle PR, Neurath MF. Exacerbation of ulcerative colitis after rituximab salvage therapy. *Inflamm Bowel Dis*. 2007 Nov;13(11):1365–8.
- Terando A, Mulé JJ. On combining antineoplastic drugs with tumor vaccines. *Cancer Immunol Immunother*. 2003 Nov;52(11):680–5.
- Ehrke MJ. Immunomodulation in cancer therapeutics. *Int Immunopharmacol*. 2003 Aug;3(8):1105–19. Review.
- Cupps TR, Edgar LC, Fauci AS. Suppression of human B lymphocyte function by cyclophosphamide. *J Immunol*. 1982 Jun;128(6):2453–7.
- Sinkovics JG, Horvath JC. Evidence accumulating in support of cancer vaccines combined with chemotherapy: a pragmatic review of past and present efforts. *Int J Oncol*. 2006 Oct;29(4):765–77.
- Neninger E, Verdecia BG, Crombet T, Viada C, Pereda S, Leonard I, et al. Combining an EGF-based cancer vaccine with chemotherapy in advanced nonsmall cell lung cancer. *J Immunother*. 2009 Jan;32(1):92–9.
- Montero E, Valdés M, Avellanet J, López A, Pérez R, Lage A. Chemotherapy induced transient B-cell depletion boosts antibody-forming cells expansion driven by an epidermal growth factor-based cancer vaccine. *Vaccine*. 2009 Apr 6;27(16):2230–9.
- Neninger Vinageras E, de la Torre A, Osorio Rodríguez M, Catalá Ferrer M, Bravo I, Mendoza del Pino M, et al. Phase II randomized controlled trial of an epidermal growth factor vaccine in advanced NSCLC. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 20;26(9):1452–8.
- García B, Neninger E, de la Torre A, Leonard I, Martínez R, Viada C, et al. Effective Inhibition of the Epidermal Growth Factor/Epidermal Growth Factor Receptor Binding by Anti-Epidermal Growth Factor Antibodies Is Related to Better Survival in Advanced Non Small-Cell Lung Cancer Patients Treated with the Epidermal Growth Factor Cancer Vaccine. *Clin Cancer Res*. 2008 Feb 1;14(3):840–6.
- CIMAvax EGF® Conjugado químico de Factor de Crecimiento Epidérmico humano recombinante acoplado a la proteína recombinante rP64K, Número de Registro B-08-063-L03-C, Centro de Inmunología Molecular (CIM), Cuba. Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). Havana, Cuba; 2008 June 12.
- Rodríguez G, González G, Crombet T, Lage A. CIMAvax EGF Development and Manufacturing. *Biopharm International*. 2008 Oct;Suppl 1:S36–42.
- Schlom J, Arlen PM, Gulley JL. Cancer Vaccines: Moving Beyond Current Paradigms. *Clin Cancer Res*. 2007 Jul 1;13(13):3776–82.
- Hoos A, Parmiani G, Hege K, Szoln M, Loibner H, Eggermont A, et al. A Clinical Development Paradigm for Cancer Vaccines and Related Biologics. *J Immunother*. 2007 Jan;30(1):1–15.
- Fine GD. Consequences of delayed treatment effects on analysis of time-to-event endpoints. *Drug Inf J*. 2007;41(4):535–9.
- Madan RA, Mohebtash M, Schlom J, Gulley JL. Therapeutic vaccines in metastatic castration-resistant prostate cancer: principles in clinical trial design. *Expert Opin Biol Ther*. 2009 Oct 27;10(1):1–10.

## LOS AUTORES

**Pedro C. Rodríguez Rodríguez**, Médico Especialista de Segundo Grado en Farmacología. Profesor Asistente e Investigador promotor de ensayos clínicos, Centro de Inmunología Molecular (CIM), La Habana, Cuba.

**Gryssell Rodríguez Martínez**, Máster en Biotecnología, Licenciada en Ciencias Biológicas. Gerente de Proyectos, CIM, La Habana, Cuba.

**Gisela González Marinello**, Doctora en Ciencias Biológicas, Licenciada en Ciencias Químicas. Gerente de Proyectos, CIM, La Habana, Cuba.

**Agustín Lage Dávila**, Médico Especialista de Segundo Grado en Bioquímica, Doctor en Ciencias Médicas. Profesor Titular y Director General, CIM, La Habana, Cuba.

*Presentado: 28 de octubre, 2009*

*Aprobado: 11 de diciembre, 2009*

*Declaraciones: Ninguna*

**Traducido al español por Eloisa Le Riverend**

# MEDICC Review

---

## Themes for Upcoming Issues

2013 - 2014

Diabetes

Primary Health Care

Communicable Diseases

Mental Health

Health & Human Development over the Lifespan

Genetics & Population Health

### ...and in every issue

- ▶ Original research by Cuban and international medical scientists and health professionals
- ▶ Exclusive features and interviews
- ▶ Viewpoints on hot topics in medicine and health in Cuba and the world

*MEDICC Review* is published by MEDICC (Medical Education Cooperation with Cuba), a non-profit organization founded in 1997 to enhance cooperation among the US, Cuban, and global health communities aimed at better health outcomes. The organization's mission is to support education and development of human resources in health committed to equitable access and quality care.

*MEDICC Review* online (ISSN 1527-3172) is an Open Access publication, allowing readers to freely access, copy, use, distribute, transmit and display its contents, subject to proper attribution. The uses described above are limited exclusively to non-commercial purposes. See *MEDICC Review's* Creative Commons License online for details.

 [www.medicc.org/mediccreview](http://www.medicc.org/mediccreview) — Copyright © 2012 by MEDICC

*MEDICC Review* is indexed in:

MEDLINE®



THOMSON REUTERS

SciELO

Science Citation Index Expanded/SciSearch®  
Journal Citation Reports/Science Edition  
Social Sciences Citation Index®  
Social Scisearch®  
Journal Citation Reports/Social Sciences Edition



[www.cabi.org](http://www.cabi.org)

Global Health  
Tropical Diseases Bulletin

ELSEVIER  
EMBASE  
SCOPUS™